

温阳活血化痰方对蒽环类药物心脏损伤的保护机制

王立玉, 沈雁*, 刘睿斯, 徐婕, 曹玉

(上海中医药大学附属岳阳中西医结合医院, 上海 200437)

[摘要] 目的:研究温阳活血化痰方对阿霉素心脏损伤的保护作用。方法:将SD大鼠随机分为6组,空白组,模型组,温阳活血化痰方低、中、高剂量组,奥诺先组。除空白组外,其余大鼠每周给予 $2.5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 阿霉素腹腔注射6周,累计剂量为 $15\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。温阳活血化痰方低、中、高剂量组每日分别予 $4.86, 9.72, 19.44\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 灌胃。空白组、模型组、奥诺先组每日予生理盐水 $10\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ 灌胃。奥诺先组每周于阿霉素前30 min腹腔注射奥诺先 $25\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,干预6周。观察大鼠一般状况并监测体质量;高分辨率小动物超声影像系统检测大鼠心功能;苏木素-伊红(HE)染色观察大鼠心肌组织病理形态学改变;蛋白免疫印迹法(Western blot)检测大鼠心肌组织中微管相关蛋白I轻链3(LC3)II,自噬关键分子酵母Atg6同系物(Beclin-1),p62蛋白的表达变化。结果:与空白组比较,模型组大鼠皮毛无光泽,进食量及活动量减少,部分便溏,精神不振,反应迟钝;体质量显著降低($P<0.01$);左心室射血分数(LVEF)和左心室缩短率(LVFS)均显著降低($P<0.01$);心肌细胞变性、水肿、断裂、溶解;心肌间质间隙扩大;心肌纤维染色不均;可见炎性细胞浸润;大鼠心肌组织中Beclin-1,LC3II表达显著增加($P<0.01$),p62显著降低($P<0.01$)。与模型组比较,温阳活血化痰方高、中剂量组体质量,LVEF,LVFS均显著增加($P<0.01$);心肌组织病理损伤不同程度减轻;LC3II,Beclin-1蛋白表达下降($P<0.05, P<0.01$),p62表达增加($P<0.05, P<0.01$)。结论:温阳活血化痰方能有效地防治阿霉素心脏损伤,其作用可能与抑制心肌细胞自噬机制相关,以高剂量效果更佳。

[关键词] 活血化痰;阿霉素;自噬;心脏损伤

[中图分类号] R22;R242;R2-031;R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2021)20-0080-07

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20212021

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20210820.1446.005.html>

[网络出版日期] 2021-08-20 19:31

Protective Effect of Wenyang Huoxue Huatan Prescription on Cardiotoxicity Induced by Anthracyclines

WANG Li-yu, SHEN Yan*, LIU Rui-si, XU Jie, CAO Yu

(Yueyang Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200437, China)

[Abstract] **Objective:** To study the protective effect of the Wenyang Huoxue Huatan prescription (WYHXHT) on cardiotoxicity induced by adriamycin. **Method:** SD rats were randomly divided into the following six groups: a normal control group, an adriamycin model group, a low-dose ($4.86\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$) WYHXHT group, a middle-dose ($9.72\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$) WYHXHT group, a high-dose ($19.44\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$) WYHXHT group, and a dexrazoxane group. Except for the normal control group, the rats in other groups received intraperitoneal injection of $2.5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ adriamycin, once a week for six weeks, with a cumulative dose of $15\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. The normal control group, the adriamycin model group, and the dexrazoxane group received $10\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ normal saline daily by gavage. In the dexrazoxane group, the rats were subjected to intraperitoneal injection of $25\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ dexrazoxane 30 min before doxorubicin administration, once a week for six weeks. The general

[收稿日期] 20210623(014)

[基金项目] 国家自然科学基金青年基金项目(81803888)

[第一作者] 王立玉, 硕士, 主治医师, 从事中医药治疗恶性肿瘤研究, E-mail: wangliyu2009@126.com

[通信作者] * 沈雁, 博士后, 研究员, 从事中医药治疗心血管疾病研究, Tel: 021-65161782, E-mail: sheny26@126.com

condition of rats was observed and their body weight was monitored. A high-resolution micro-ultrasound imaging system was used to detect rat cardiac function. Hematoxylin-eosin (HE) staining was performed to observe the pathological changes of myocardial tissues of rats. Western blot was used to detect the protein expression of microtubule-associated protein 1 light chain 3 (LC3) II, the mammalian homolog of yeast Atg6 (Beclin-1), and p62 protein in rat myocardial tissues. **Result:** Compared with the normal control group, rats in the adriamycin model group showed dull fur, reduced food intake and activity, loose stool, low energy, and slow response. Besides, it also displayed reduced body weight ($P<0.01$), decreased left ventricular ejection fraction (LVEF) and left ventricular fractional shortening (LVFS) ($P<0.01$), myocardial cell degeneration, edema, rupture, and dissolution, expansion of myocardial interstitium, uneven staining of myocardial fiber, visible inflammatory cell infiltration, up-regulated expression of Beclin-1 and LC3 II in rat myocardial tissues ($P<0.01$), and down-regulated p62 expression ($P<0.01$). Compared with the adriamycin model group, the medium- and high-dose WYHXHT groups exhibited increased body weight, LVEF, and LVFS ($P<0.01$), relieved pathological injury of myocardial tissues, down-regulated expression of LC3 II and Beclin-1 ($P<0.05, P<0.01$), and up-regulated expression of p62 ($P<0.05, P<0.01$). **Conclusion:** WYHXHT can effectively prevent and treat adriamycin-induced cardiotoxicity, and its effect may be related to the inhibition of myocardial cell autophagy. The effect is dominant in the high-dose group.

[Keywords] blood activating and phlegm resolving; adriamycin; autophagy; cardiotoxicity

蒺藜类药物是一种广泛的抗肿瘤药物,临床应用较广泛,心脏损伤是其最为严重的不良反应,以阿霉素为代表。恶性肿瘤患者由化疗药物引起心脏损伤的死亡风险甚至已超过了癌症复发的风险^[1]。临床显示蒺藜类药物心脏损伤多呈进展性和不可逆性,特别是初次使用蒺藜类药物就易造成心脏损伤,早期监测和积极预防蒺藜类药物引起的心脏损伤显得尤为重要^[2]。因此肿瘤药物治疗引起心脏损伤的防治是肿瘤学专家和心脏病学专家共同面临的挑战。目前,铁螯剂右丙亚胺(DZR)是唯一公认的推荐用于预防蒺藜类心脏损伤的药物,虽然被证明有一定的心脏保护作用,但多项研究发现临床使用可降低蒺藜类药物的临床疗效^[3]。因此至今,仍没有一种药物或是方法可以完全地预防蒺藜类抗肿瘤药物引起的心脏损伤而不降低其抗癌疗效^[4]。积极寻找一种有效的且更安全的防治蒺藜类心脏损伤的药物仍是一个严峻的挑战。中医药在拮抗蒺藜类药物心脏损伤方面的研究已成为热点^[5]。

目前研究发现蒺藜类心脏损伤心肌损伤是多种因素共同作用的结果,主要包括氧化应激^[6]、铁代谢障碍^[7]、线粒体功能损伤^[8]、拓扑异构酶2^[9]等。近年研究发现,细胞自噬是蒺藜类心脏损伤的重要机制之一^[10]。研究表明黄芪多糖能通过调节丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)和哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)信号通路调节自噬,减轻阿霉素引起的

心脏损伤^[11]。中药复方研究发现当归补血汤可能通过激活磷脂酰肌醇-3激酶(PI3K)介导蛋白激酶B(Akt)/mTOR信号通路,抑制心肌细胞自噬,减轻阿霉素小鼠的心脏损伤^[12]。中医药防治抗肿瘤药物治疗的心脏损伤具有独特的优势和临床疗效,但其深层的机制还需要深入研究。本研究基于本虚标实的病机,从“痰瘀互结”角度,提出温阳活血化瘀方可能通过调控自噬防治蒺藜类心脏损伤的假说,探讨温阳活血化瘀方对蒺藜类心脏损伤的保护机制,为温阳活血化瘀方治疗蒺藜类心脏损伤提供理论依据。

1 材料

1.1 动物 SPF级雄性SD大鼠,购自上海吉辉实验动物饲养有限公司,体质量(200±20)g,合格证号20170012007541。饲养于上海中医药大学附属岳阳中西医结合医院动物房,使用许可证号SYXK(沪)2018-0040。室内温度控制(22±2)℃,相对湿度(55±10)%,每日光照12h,避光12h,标准饲料和饮用水自由摄取。实验动物经上海中医药大学附属岳阳中西医结合医院伦理委员会批准,批号YYLAC-2019-028。

1.2 药物 温阳活血化瘀方:黄芪30g,桂枝9g,赤芍15g,丹参15g,泽泻30g,姜半夏9g。于上海中医药大学附属岳阳中西医结合医院药剂科购买,经药剂科朱晓春主管药师鉴定均为正品。上6味加水煎煮,去渣浓缩,浓缩至1.94g·mL⁻¹,4℃冰箱保

存,用蒸馏水稀释至所需浓度。阿霉素(注射用盐酸多柔比星,瀚晖制药有限公司,国药准字H33021980,10 mg/支);奥诺先(江苏奥赛康药业有限公司,国药准字H20061157,250 mg/瓶)。

1.3 试剂 自噬关键分子酵母Atg6同系物(Beclin-1),微管相关蛋白I轻链3(LC3),p62,甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)抗体(美国Cell Signaling Technology公司,批号分别为3738,2775,39749,5174);羊抗兔辣根过氧化物酶(HRP)标记二抗(上海碧云天公司,批号A0208);苏木素,伊红(台湾Baso公司,批号分别为714094,BA4099)。

1.4 仪器 Vevo2100型小动物超声影响系统(美国Visualsonics公司);mini protean 3 cel型电泳仪(美国Bio-Rad公司);PS-9型电转仪,ST-1型半干式转移电泳槽(中国竞迈科技有限公司);MK3型酶标仪(芬兰雷勃公司);Tanon-5200型成像系统(中国Tanon公司);SQ2125型石蜡切片机(中国徕克公司);VistarImage型显微图象分析系统(日本Nikon公司);DHG-9023A型恒温烘箱(中国上海恒一科学仪器有限公司)。

2 方法

2.1 分组 SD大鼠90只,适应喂养3 d。采用随机数字分组法按体质量将大鼠分为6组,空白组($n=10$),模型组($n=16$),温阳活血化痰方低、中、高剂量组($n=16$),奥诺先组($n=16$)。

2.2 模型制备 采用大鼠腹腔注射阿霉素,建立阿霉素心脏损伤大鼠模型^[13]。腹腔给药,除空白组大鼠外,对其他各组大鼠进行腹腔注射阿霉素 $2.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,每周1次,连续用药6周,累计剂量为 $15 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。空白组给予同等体积的生理盐水腹腔注射,每周1次,连续用药6周。

2.3 干预 造模同时给予干预治疗,连续给药6周。温阳活血化痰方低、中、高剂量每日分别予温阳活血化痰方 $4.86, 9.72, 19.44 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 灌胃。空白组、模型组、奥诺先组每日予生理盐水 $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 灌胃。奥诺先组每周于阿霉素前30 min腹腔注射奥诺先 $25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (右丙亚胺-阿霉素10:1)。中药给药剂量根据人常用临床剂量并按照成人(按60 kg计算)和动物间接体表面积折算的等效剂量比值表(大鼠的折算系数为6.3)换算出大鼠所需中药给药剂量^[14]。

2.4 观察指标及方法

2.4.1 观察大鼠一般情况变化并监测体质量变化 观察大鼠活动情况、饮食情况、粪便性状、毛发改变

等一般情况,并每周测量大鼠体质量。

2.4.2 心功能检测 使用高分辨率小动物超声影像系统检测大鼠心脏功能。将大鼠放入气体麻醉机,接通麻醉通道,待大鼠麻醉后脱去大鼠左胸部被毛,固定于心超机上。使用持续气体麻醉烷保持麻醉状态。大鼠左心前区及探头上涂抹偶联剂,以高频探头进行定位,将探头至于左胸部,分别记录左心室射血分数(LVEF),左心室缩短率(LVFS)。

2.4.3 苏木素-伊红(HE)染色观察心脏组织 给药结束后,禁食12 h。麻醉后,从主动脉根部游离出心脏,剪除心脏血管残端等其他组织,分离出全心,取出心脏并用预冷的生理盐水冲洗,去除血液后用滤纸吸干。将部分心肌组织固定于4%多聚甲醛中,HE染色后光镜下进行心肌组织形态学观察。

2.4.4 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测心脏组织中LC3 II, Beclin-1, p62蛋白表达 大鼠部分心肌组织,液氮速冻后转至 $-80 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存。将心肌组织经裂解液匀浆后裂解后,冰浴静置20 min,混匀后 $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$, $12\ 000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心15 min,离心半径6 cm,取上清液,BCA法进行蛋白定量。上样缓冲液与适当蛋白匀浆混匀后,置于沸水中加热10 min,冷却至室温,以凝胶电泳分离并转膜,TBST洗膜5 min,5%脱脂奶粉 $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 过夜。加入稀释的相应一抗(Beclin-1 1:1 000, p62 1:1 000, LC3 II 1:1 000, GAPDH 1:2 000),摇床孵育2 h,TBST洗膜3次,每次5 min。加入二抗(1:1 000)配制进行 $37 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 摇床孵育1 h,TBST洗膜3次,每次5 min,结束后显色,测量条带灰度值,并以目标条带与内参条带灰度的比值反映目标蛋白的表达情况。

2.5 统计学分析 采用SPSS 22.0进行数据分析。计量资料,采用 $\bar{x} \pm s$ 表示。如检测指标符合正态分布且方差齐性时采用完全随机设计资料方差分析,如各组之间的差异有统计学意义,则选用SNK法进行多组均数的两两比较,如检测指标不符合正态分布或方差不齐时采用Kruskal-Wallis秩和检验,如各组之间的差异有统计学意义,则采用Wilcoxon Rank Sum检验进行多组的两两比较,并根据比较的组数修正检验水准。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 温阳活血化痰方对阿霉素心脏损伤大鼠一般状况影响 空白组大鼠皮毛光滑,食欲正常,大便正常,反应迅速敏捷,精神状况良好;模型组大鼠皮毛无光泽,进食量及活动量减少,部分便溏,精神不

振,反应迟钝;温阳活血化痰方组和奥诺先组大鼠状态处于正常组和模型组两者之间。死亡情况,模型组死亡2只,温阳活血化痰方低剂量组死亡1只,奥诺先组大鼠因腹腔注射失误死亡1只。

3.2 温阳活血化痰方对阿霉素心脏损伤大鼠体重影响 药物干预3周,与空白组比较,模型组体质量

显著降低($P<0.01$)。与模型组比较,温阳活血化痰方中、高剂量组体质量显著增加($P<0.01$),奥诺先组体质量明显增加($P<0.05$)。药物干预6周,与空白组比较,模型组体质量显著降低($P<0.01$)。与模型组比较,温阳活血化痰方中、高剂量组和奥诺先组体质量均显著增加($P<0.01$)。见表1。

表1 温阳活血化痰方对阿霉素心脏损伤大鼠体重影响($\bar{x}\pm s$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	n	给药前	给药3周	给药6周
空白		10	186.00±7.61	321.10±11.97	386.40±14.03
模型		14	187.44±5.33	300.94±13.20 ¹⁾	348.21±13.59 ¹⁾
温阳活血化痰方	4.86	15	191.12±9.40	304.25±20.93	358.13±12.79
	9.72	16	188.19±5.54	318.06±16.75 ³⁾	368.12±18.36 ³⁾
	19.44	16	190.00±6.22	317.94±17.11 ³⁾	367.19±17.89 ³⁾
奥诺先	0.025	15	187.56±7.72	315.53±9.62 ²⁾	364.53±10.81 ³⁾

注:与空白组比较¹⁾ $P<0.01$;与模型组比较²⁾ $P<0.05$,³⁾ $P<0.01$ (表2,3同)。

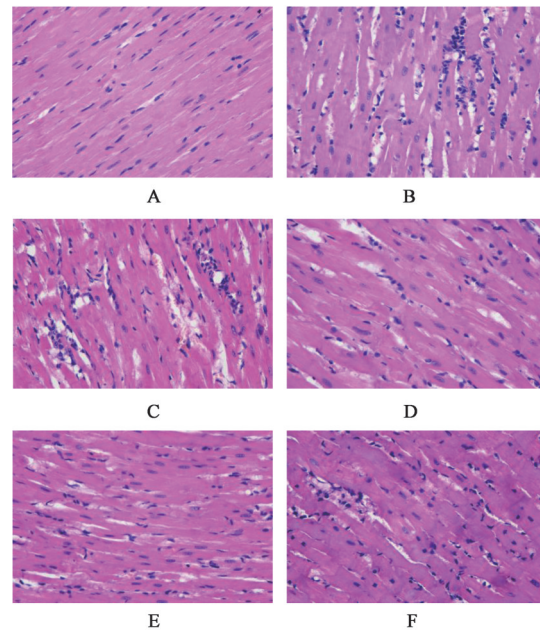
3.3 温阳活血化痰方对阿霉素心脏损伤大鼠心脏功能影响 与空白组比较,模型组LVEF和LVFS均显著降低($P<0.01$)。与模型组比较,温阳活血化痰方中、高剂量组和奥诺先组LVEF均显著升高($P<0.01$);温阳活血化痰方中、高剂量组LVFS均显著升高($P<0.01$),奥诺先组LVFS明显升高($P<0.05$)。见表2。

表2 温阳活血化痰方对阿霉素心脏损伤大鼠心脏功能影响($\bar{x}\pm s, n=8$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	LVEF	LVFS
空白		81.47±6.53	51.83±6.81
模型		64.34±7.38 ¹⁾	36.32±5.35 ¹⁾
温阳活血化痰方	4.86	69.93±3.49	40.79±2.98
	9.72	74.57±6.24 ³⁾	45.07±5.72 ³⁾
	19.44	77.49±5.57 ³⁾	47.54±5.20 ³⁾
奥诺先	0.025	72.53±5.70 ³⁾	42.98±4.65 ²⁾

3.4 温阳活血化痰方对阿霉素心脏损伤大鼠心肌组织病理的影响 空白组大鼠心肌纤维排列规整,细胞核多位于肌纤维中央;模型组心肌细胞变性、水肿、断裂、溶解;心肌间质间隙扩大;心肌纤维染色不均;可见炎性细胞浸润;奥诺先组心肌细胞变性、水肿;心肌间质间隙扩大;心肌纤维染色不均;程度较模型组均有所减轻;温阳活血化痰方高、中、

低剂量组心肌损伤程度均较模型组有不同程度的减轻,以中、高剂量组较为明显。见图1。



A. 空白组;B. 模型组;C~E. 温阳活血化痰方低、中、高剂量组;F. 奥诺先组(图2同)

图1 温阳活血化痰方对阿霉素心脏损伤大鼠心肌组织病理的影响(HE,×400)

Fig. 1 Effect of Wenyang Huoxue Huatan prescription on myocardial pathological changes in adriamycin induced cardiotoxicity rats(HE,×400)

3.5 温阳活血化痰方对阿霉素心脏损伤大鼠心肌组织自噬相关蛋白LC3 II, Beclin-1, p62影响 与空白组比较,模型组大鼠心肌组织中 Beclin-1,

LC3 II 表达显著增加 ($P < 0.01$), p62 显著降低 ($P < 0.01$)。与模型组比较,温阳活血化瘀方中、高剂量组、奥诺先组 LC3 II 表达明显降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), p62 表达明显增加 ($P < 0.05$)。温阳活血化瘀方低、中、高剂量组、奥诺先组 Beclin-1 表达均显著降低 ($P < 0.01$)。见图 2, 表 3。

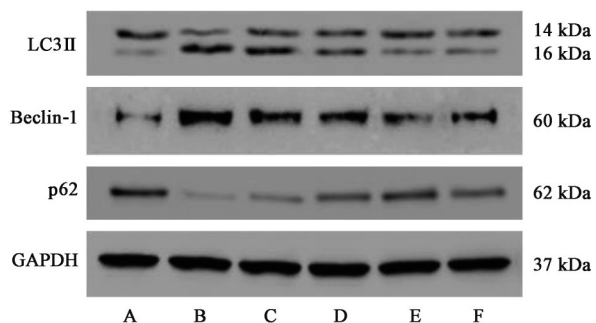


图 2 各组大鼠心肌组织自噬相关蛋白表达电泳

Fig. 2 Electrophoresis of autophagy-related protein expression in myocardial tissue of rats in each group

4 讨论

中医古籍虽无蒺环类药物所致心脏损伤记载,

现代医家根据心慌、气短、乏力、胸闷等心肌受损症状,多将其归于“心悸”“胸痹”等范畴。中医学理论认为其病机多为心阳虚弱为主,痰瘀互结为标。由于痰源于精,瘀源于血,由“精血同源”可得“痰瘀同源”,痰瘀均由精血所化,属阴,其性重浊凝滞,胶结难化,痰瘀可相互转化,不可分离,瘀不去,则痰不可净,痰不化,则瘀难消。王彩琴^[15]也认为蒺环类药物心脏损伤病机主要是心阳受损或心之气阴不足,推动血液无力,气滞血瘀,以气虚气滞夹瘀为主。因此该研究选用温阳活血化瘀方温阳的基础上,痰瘀同治,痰化瘀消,标本同治。温阳活血化瘀方由黄芪、桂枝、赤芍、丹参、泽泻、姜半夏药物组成。方中黄芪甘温,补气升阳,桂枝温经通脉,助阳化气。《金匮方歌括》言:“桂枝振心阳,如离照当空,则阴霾全消,而无日复明也。”两药合用,共为君药,益气温阳以治其本。阳气来复,则阴寒散,瘀血祛,水饮消,可谓益火之源,以消阴翳。赤芍、丹参活血化瘀,半夏燥湿化痰,泽泻利水渗湿。诸药合用,痰瘀同治,痰化瘀消,共奏温阳益气活血化瘀之功,具有良好的临床疗效。

表 3 温阳活血化瘀方对阿霉素心脏损伤大鼠心肌组织自噬相关蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Table 3 Effect of Wenyang Huoxue Huatan prescription on autophagy related protein expression in myocardial tissue of adriamycin induced cardiotoxicity rats ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	LC3 II /GAPDH	Beclin-1/GAPDH	p62/GAPDH
空白		0.140±0.042	0.301±0.047	0.518±0.038
模型		0.486±0.030 ¹⁾	1.005±0.115 ¹⁾	0.094±0.015 ¹⁾
温阳活血化瘀方	4.86	0.428±0.027	0.773±0.101 ³⁾	0.146±0.023
	9.72	0.318±0.065 ²⁾	0.642±0.098 ³⁾	0.188±0.023 ²⁾
	19.44	0.217±0.080 ³⁾	0.388±0.073 ³⁾	0.359±0.038 ³⁾
奥诺先	0.025	0.247±0.051 ²⁾	0.560±0.062 ³⁾	0.256±0.011 ³⁾

阿霉素药物心脏损伤的机制目前尚未明确阐明,心肌细胞自噬失调是阿霉素心脏损伤的发病机制之一^[10,16]。自噬是一种细胞内降解细胞质元素的机制^[17],生理条件下自噬通过清除细胞中多余或受损的蛋白质和细胞成分,保持心脏正常结构和功能;病理条件下自噬被过度激活,对心肌细胞产生有害作用^[18]。Beclin-1 是自噬早期发生至关重要的因子,可募集自噬相关调节因子,激活下游基因的表达,是阿霉素刺激自噬体形成的关键蛋白之一^[19]。LC3 是自噬体膜上的标记蛋白,它有两种形式:LC3 I 和 LC3 II。LC3 最初以 proLC3 形式进行合成,proLC3 切割 C 端变成 LC3 I,自噬激活后,LC3 I 与磷脂酰乙醇胺 (PE) 偶联形成脂质化 LC3 II,LC3 II 是唯一与完整的自噬体可靠结合的

蛋白质标志物^[20-21],在自噬体形成过程中是必不可少的。p6 参与自噬体的降解过程,在自噬流下游 p62 作为一种选择性自噬受体,可以直接与 LC3 II 结合并被自噬选择性降解^[22-23]。p62 为评价自噬降解的指标^[24]。因此,Beclin-1, LC3 II 和 p62 被认为是自噬发生发展的重要指标,同时检测 LC3 II 和 p62 蛋白表达,可衡量自噬流的标准。研究表明,蒺环类药物会增加心肌细胞自噬空泡的形成,造成心脏损伤,抑制自噬启动和自噬小体形成能保护心脏功能,避免心肌受损^[10]。MA 等^[25]在探讨芦丁对心肌细胞死亡的保护作用机制时发现,芦丁可抑制 Akt 激活介导的过度自噬和凋亡,从而有效地减轻阿霉素引起的心脏损伤。

本研究通过阿霉素药物心脏损伤模型建立,结

果显示模型组大鼠皮毛无光泽,进食量及活动量减少,部分便溏,精神不振,反应迟钝,体质量显著降低。与模型组比较,温阳活血化痰方各组大鼠一般状态均有不同程度改善,温阳活血化痰方中、高剂量组体质量均显著增加。观察温阳活血化痰方对阿霉素心脏损伤大鼠心功能的影响,结果提示,与模型组比较,温阳活血化痰方中、高剂量组LVEF, LVFS均升高,温阳活血化痰方对阿霉素心脏损伤心功能具有改善作用。通过对心肌组织细胞HE染色,发现模型组大鼠心肌病理组织发生改变,与模型组比较,温阳活血化痰方高、中、低剂量组心肌损伤改变均有不同程度减轻。提示温阳活血化痰方对心肌细胞具有保护作用,能有效的防治阿霉素心脏损伤。

为进一步探讨其可能的机制,通过对自噬相关蛋白的检测,研究发现与空白组比较,模型组自噬相关蛋白LC3 II, Beclin-1表达明显增加,p62蛋白表达降低,表明自噬降解途径能够及时清除与LC3 II结合的p62蛋白,而LC3 II的累积与自噬降解途径累积无关,与LC3 I转变的LC3 II增多相关,说明自噬水平被过度激活,提示阿霉素心脏损伤可能与自噬过度激活有关。与模型组比较,温阳活血化痰方能降低LC3 II, Beclin-1蛋白表达,增加p62蛋白表达。提示温阳活血化痰方可调控心肌细胞自噬蛋白水平。

综上,温阳活血化痰方可能通过下调LC3 II, Beclin-1蛋白,增加p62蛋白表达,抑制过度激活的自噬水平,拮抗阿霉素药物心脏损伤。本研究结果提示温阳活血化痰方对阿霉素心脏损伤具有保护作用,可能与抑制过度激活的自噬水平有关,这可能是温阳活血化痰方防治阿霉素心脏损伤的分子作用机制之一,为临床治疗阿霉素心脏损伤提供新思路。今后研究中将进一步探讨温阳活血化痰方调控细胞自噬的具体分子机制。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

[1] CARDINALE D, COLOMBO A, TORRISI R, et al. Trastuzumab induced cardiotoxicity: clinical and prognostic implications of troponin I evaluation[J]. J Clin Oncol, 2010, 28(25):3910-3916.
[2] 石远凯,巴一,冯继锋. 中国蒽环类药物特性专家共识[J]. 中国肿瘤临床,2018,45(3):109-112.
[3] TAHOVER E, SEGAL A, ISACSON R, et al. Dexrazoxane added to doxorubicin-based adjuvant

chemotherapy of breast cancer: a retrospective cohort study with a comparative analysis of toxicity and survival[J]. Anticancer Drug, 2017, 28(7):787-794.
[4] PAYNE D L, NOHRIA A. Prevention of chemotherapy induced cardiomyopathy [J]. Curr Heart Fail Rep, 2017, 14(5):398-403.
[5] SHABALALA S, MULLER C J F, LOUW J, et al. Polyphenols, autophagy and doxorubicin-induced cardiotoxicity [J]. Life Sci, 2017, doi: 10.1016/j.lfs.2017.05.003.
[6] SONGBO M, LANG H, XINYONG C, et al. Oxidative stress injury in doxorubicin-induced cardiotoxicity[J]. Toxicol Lett, 2019, doi:10.1016/j.toxlet.2019.02.013.
[7] FANG X, WANG H, HAN D, et al. Ferroptosis as a target for protection against cardiomyopathy[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2019, 116(7):2672-2680.
[8] KAVAZIS A N, MORTON A B, HALL S E, et al. Effects of doxorubicin on cardiac muscle subsarcolemmal and intermyofibrillar mitochondria [J]. Mitochondrion, 2017, doi: 10.1016/j.mito.2016.10.008.
[9] MARINELLO J, DELCURATOLO M, CAPRANICO G. Anthracyclines as topoisomerase II poisons: from early studies to new perspectives [J]. Int J Mol Sci, 2018, 19(11):3480-3497.
[10] KOLEINI N, KARDAMI E. Autophagy and mitophagy in the context of doxorubicin-induced cardiotoxicity [J]. Oncotarget, 2017, 8(28):46663-46680.
[11] CAO Y, SHEN T, HUANG X, et al. Astragalus polysaccharide restores autophagic flux and improves cardiomyocyte function in doxorubicin-induced cardiotoxicity [J]. Oncotarget, 2017, 8(3):4837-4848.
[12] 毛启远,刘兰椿,王瑾琨. 当归补血汤对阿霉素心肌损伤小鼠的保护作用及对心肌细胞自噬的影响[J]. 中华中医药杂志,2021,36(5):2515-2520.
[13] 张珊,郝春华,葛一蒙. 刺五加注射液改善阿霉素诱导大鼠心脏收缩功能下降的作用研究[J]. 中草药, 2018,49(17):4071-4077.
[14] 徐淑云. 药理实验方法学[M]. 北京:人民卫生出版社,2005:276.
[15] 王彩琴. 生脉及丹参注射液联用预防抗肿瘤抗生素化疗心脏毒性反应35例[J]. 山东中医杂志,2008,27(9):599-600.
[16] DIRKS-NAYLOR A J. The role of autophagy in doxorubicin induced cardiotoxicity [J]. Life Sci,

- 2013, 93(24):913-916.
- [17] SCIARRETTA S, MAEJIMA Y, ZABLOCKI D, et al. The role of autophagy in the heart[J]. *Annu Rev Physiol*, 2018, doi:10.1146/annurev-physiol-021317-121427.
- [18] HO J, YU J, WONG S H, et al. Autophagy in sepsis: degradation into exhaustion?[J]. *Autophagy*, 2016, 12(7):1073-1082.
- [19] CHENG Z, ZHU Q, DEE R, et al. Focal adhesion kinase-mediated phosphorylation of Beclin1 protein suppresses cardiomyocyte autophagy and initiates hypertrophic growth[J]. *J Biol Chem*, 2017, 292(6):2065-2079.
- [20] GALLUZZI L, BAEHRECKE E H, BALLABIO A, et al. Molecular definitions of autophagy and related processes[J]. *EMBO J*, 2017, 36(13):1811-1836.
- [21] ZHANG Z, SINGH R, ASCHNER M. Methods for the detection of autophagy in mammalian cells [J]. *Curr Protoc Toxicol*, 2016, doi:10.1002/cptx.11.
- [22] ZHAO Y, LI Y, WANG J, et al. Fluoride induces apoptosis and autophagy through the IL-17 signaling pathway in mice hepatocytes [J]. *Arch Toxicol*, 2018, 92(11):3277-3289.
- [23] YOSHII S R, MIZUSHIMA N. Monitoring and measuring autophagy[J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(9):1865-1877.
- [24] KLIONSKY D J, ABDELMOHSEN K, ABE A, et al. Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy (3rd edition) [J]. *Autophagy*, 2016, 12(1):1-222.
- [25] MA Y, YANG L, MA J, et al. Rutin attenuates doxorubicin-induced cardiotoxicity via regulating autophagy and apoptosis [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2017, 1863(8):1904-1911.
- [责任编辑 张丰丰]

·书讯·

腹腔镜手术对高龄胆道类疾病患者的安全性分析

——评《腹腔镜手术并发症的预防与处理》

胆道类疾病的发病率随着年龄的增长而增加,我国老年人的发病率呈逐年增高。手术是胆道类疾病患者的首选治疗方法,越来越多的高龄患者选择接受腹腔镜手术。从腹腔镜手术安全性角度分析,手术中常见并发症的预防与治疗,对其发生的原因、几率、严重程度及处理方法各有不同。

《腹腔镜手术并发症的预防与处理》由美国 Dr.Kavic 等主编,湖南科学技术出版社2002年1月出版。汇集了世界上40多名腹腔镜外科专家的成功经验和教训,体现了系统性和专业性。该书中的宝贵经验和教训都是值得我国医学工作者借鉴的,任何一个从事腹腔镜外科的医师都将会从中汲取教益,因此联合专家团队对其进行了专业化的中文翻译,希望能提高我国高龄胆道疾病患者的治疗水平,为进行腹腔镜手术安全性工作提供重要的参考。

该书对腹腔镜手术相关的并发症进行详尽探究,共分为31个章节;前五章讲述了确保腹腔镜手术的安全性的基础准备工作。中间二十四章,对各类疾病的腹腔镜手术及其并发症进行分析,为临床腹腔镜手术提供专业化指导。后两章,确保腹腔镜手术安全性的培训、证书以及法律问题,为医护人员提供技能以及法律上的服务。腹腔镜手术也有并发症及死亡的风险,主要体现在独特的腹腔镜手术和与不同疾病的开腹手术相对应的并发症。尤其是外科医生在缺乏解剖学基础知识,腹腔镜手术的专用仪器设备,电外科能量的基础知识及需要腹腔镜手术手眼进行配合的时候,切除手术中容易出现并发症,甚至发生灾难性的并发症。为此,该书概述了手术医护人员和患者术前的准备工作、术中的手术操作以及术后的技能、法律保障等环节,来完善高龄胆道疾病患者的腹腔镜手术的安全性。第七章及第十一章中分别对腹腔镜的胆囊切除术、微创肠道外科进行并发症的预防以及处理方法,对完善高龄胆道疾病患者行腹腔镜手术的安全性具有重要意义。

该书作为临床医学的重要指导用书,采用图文并茂的形式,大量地列举临床实例,并不时穿插翔实的图解,增加了该书的趣味性、可读性以及应用性,使读者将所学的医学知识能够应用到临床实践中,便于读者更好地进行思考和借鉴,对于医学专业在校学生、临床医生和护理工作均有指导作用。

(作者王培儒,焦多延,苏建超,甘肃省永昌县人民医院,甘肃 永昌 737200)